动　物　学　研　究　2009，Apr. 30(2): 113−120　　CN 53-1040/Q　ISSN 0254-5853
Zoological Research　　DOI：10.3724/SP.J.1141.2009.02113

黑龙江省不同山系狍种群遗传多样性分析

刘艳华，张明海*

（东北林业大学 野生动物资源学院，　黑龙江 哈尔滨　150040）

摘要：狍（*Capreolus pygargus*）为我国重要的经济动物，并且是国家一级保护动物——东北虎(*Panthera tigris altaica*)的主要食物之一。因此，深入了解狍各个地理单元内种群的遗传变异，可以为我们制定保护管理策略提供依据，进而恢复珍稀濒危物种的野外种群数量。对 32 个不同狍个体（来自 3 个不同山系）的线粒体 DNA 控制区的部分序列进行了测定和群体分析，发现了 50 个变异位点，定义了 27 种单倍型，其单倍型多样性(*h*)平均值为 0.978、核苷酸多样性(π)平均值为 0.022 60，种群总体遗传多样性较高；在 3 个地理单元的狍种群中，大兴安岭地区的狍种群具有较高的遗传多样性，应予以优先保护。从 Tajima’s *D* 和 Fu & Li’s *D* 值的估算结果表明，这 3 个狍种群与中性进化的歧异度相比，并没有明显的偏离(P> 0.1)，无明显的证据显示这 3 个狍种群间存在很强的平衡选择。

关键词：狍；粪便 DNA；mtDNA 控制区；遗传多样性；黑龙江
中图分类号：Q959.842；Q951.3　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2009)02-0113-08

Population Genetic Diversity of Roe Deer (*Capreolus pygargus*) in Mountains of Heilongjiang Province

LIU Yan-hua, ZHANG Ming-hai*

(*College of Wildlife Resources, Northeast Forest University, Heilongjiang Harbin*　150040 *China*)

Abstract: The roe deer is an animal of economic importance in China and a primary food source of the Amur tiger. Understanding the morphological and molecular variation of geographically isolated roe deer populations is therefore important in establishing conservation strategies. Thirty two samples from three differences geographic regions were sequenced and the populations analysed. Twenty seven haplotypes were identified from 32 sequences of the 460 bp D-loop of mtDNA genome. Fifty sites were found to be polymorphic. The population genetic diversity of roe deer was of higher level as indicated by the following parameters: mean value of haplotype diversity (h =0.9780) and mean value of nucleotide diversity (π = 0.02260). Neither the estimate of Tajima’s D nor that of Fu & Li's D deviated significantly from the neutral selection hypothesis (P>0.1) for the three populations. The result suggests no evidence of strong selective sweeps or balancing selection. Of the three populations, the Great Khinghan Mountains geographic region was shown to have the most nucleotide diversity. To ensure conservation of genetic diversity within this population, we propose a high priority conservation classification.

Key words: Roe deer (*Capreolus Pygargus*); Faecal DNA; mtDNA control region; Genetic diversity; Heilongjiang

狍（*Capreolus pygargus*）隶属于偶蹄目（Artiodactyla）鹿科（Cervidae）狍属(Capreolus)。狍是东北常见的中型鹿科动物，常栖息于疏林、灌丛、河谷或沼泽湿地之中(Sheng，1992)。狍是我国重要的经济兽类，具有肉用、皮用和药用价值，并且是国家一级保护动物——东北虎(*Panthera tigris altaica*)的主要食物之一，具有较大的经济和生态价值。因此，对其进行有效的管理有助于我们更好地保护东北虎种群，以增加这一珍稀濒危物种的野外种群数量。

收稿日期：2008-08-24；接受日期：2009-02-23
基金项目：国家自然科学基金资助项目(30870309)；黑龙江省自然科学基金重点项目（ZJN-0501）；美国老虎和犀牛基金资助项目（98210-2-G191）
*通讯作者（Corresponding author），E-mail:zhangminghai2004@126.com
第一作者简介：刘艳华（1979－），女，博士生，研究方向为野生动物生态学与保护生物学

物种遗传多样性的丧失将对狍生存带来直接的不利影响，可以使物种更加容易灭绝。任何物种，只有具备了一定的遗传多样性才能抵御自然界中的各种压力，否则，灭绝将是不可避免的。目前，关于对狍的研究主要集中在生理、生化和生态上的描述，以及对狍人工繁殖与驯养等方面的探讨（Chen & Xiao，1991；Wang et al，2005；Teng et al，2006）；在分子水平上仅对东北狍的分类地位（Zhang et al，2005；Xiao et al, 2004）和线粒体 DNA 序列的多态性（Yang & Ma，2004）进行了研究。然而，关于狍种群遗传多样性变化还未见报道。因此，本文测定了来自大兴安岭、小兴安岭和完达山 3 个山系的 32 个野生狍线粒体 DNA 控制区的序列，分析比较了 3 个山系狍种群的遗传变异水平，以期为狍的管理和保护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本实验采用非损伤性取样法，在大兴安岭、小兴安岭和完达山 3 个山系各设取样点，分别为 TQ、XQ 和 DFH（图 1），共采集不同个体狍粪便样品 32 份，其分布分别为大兴安岭地区 12 份、小兴安岭地区 6 份、完达山地区 14 份。采集样品时，多选择在冬季落雪后，在狍经常出现的区域内沿其足迹链寻找粪便，以保证狍粪便样品的新鲜程度。采自野外的粪便样品来自狍，而非其近源的物种，且不属于同一个个体是十分重要的。因此，在采集过程中通过足迹链与粪便外观对狍与其他动物进行分辨。而所采得的粪便是否属于同一狍个体，则采用微卫星多态性位点检测进行鉴别，以排除来源于同一个个体的可能性。为了避免样品的污染，样品采集时, 应配带一次性手套，采集到的样品需封装到塑料袋内，并要避免损伤粪便颗粒表层，以保证目的 DNA 的质量（Adams et al, 2003）。每个样品袋中封装一张标记卡，其上注明采集地的地理坐标、采集时间以及生境内的食物组成, 并将样品编号。

1.2 DNA 提取

DNA 提取方法参考上海杰美生物公司生产的《粪便 DNA 提取试剂盒》使用说明并略作改进，其具体步骤如下：取一定量的狍粪便放入锥形离心管内，加入缓冲液，经涡旋振荡使固态物质充分溶

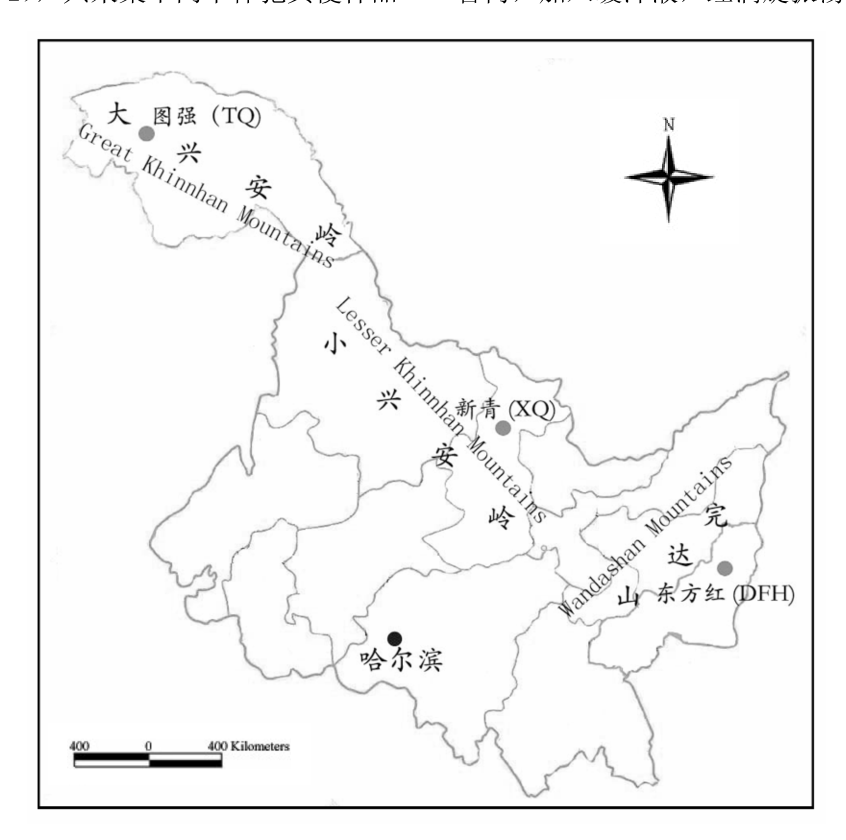


图 1 狍粪便样品采集地
Fig. 1 Geographic location of roe deer faecal sampling in this study

解，再经离心处理使杂质沉淀，然后吸取管内上部清液。将吸出的上清液放入另一锥形管内，加入一定量的酶解液、盐析液和去干扰剂，经涡旋振荡后放入培养箱中 60℃孵育，使细胞裂解。裂解后的溶液加入萃取液，经振荡、离心后，取上清液放入另一锥形离心管内；加入一定量的浓缩液和沉淀液后再次离心，去掉上清液；加入清理液后再次离心，再次去掉上清液，将管内物质在空气中自然晾干后加入保存液，放入冰箱中 4℃保存待测。

1.3　PCR 扩增及其产物的测定

引物为 L-Pro：5'-CGTC AGTC TCAC CATC AACC CCCA AAGC-3'，H-Phe：5'-GGGA GACT CATC TAGG CATT TTCA GTG-3'（Randi & Pierpaoliand, 1997）；反应体系为 Taq 聚合酶(Takara)0.3 uL, dNTPs(Takara)5 μL, BSA(lg/L) 5 μL, 10×Buffer5 μL，L-Pro 和 H-Phe(20 mmol/L)各 0.5 μL，DNA100 ng，加灭菌的超纯水至 50 μL。设计不加模板的空白对照。反应条件为 95℃预变性 10 min；95℃变性 30s, 50℃退火 40s，72℃延伸 60s，40 个循环；然后 72℃延伸 10 min，4℃保存。PCR 产物采用 1.0%的常规琼脂糖凝胶电泳检测，上样量为 5 μL PCR 产物加 1 μL 6×Loading Buffer，100V 电压电泳 30 min, Good wall 染色，凝胶成像系统观察电泳谱带，并将电泳条带较亮较窄的扩增产物送至上海生工测序公司进行纯化并测序。

1.4　序列分析

序列结果用 Clustal X 软件(Thompson et al, 1997)进行 DNA 序列排列，并辅以人工校对。用 DnaSP 4.0 软件(Rozas & Rozas, 2003)计算核苷酸多样性(nucleotide diversity，π)和单倍型多样性(haplotype diversity, *h*)。用 MEGA 2.1 软件(Kumar et al, 2001)进行序列比较和变异检测，确定变异位点和单倍型，并用距离矩阵邻接法（neighbor joining, NJ）构建系统发育树。用 MrBayes 3.0 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003)软件的贝叶斯法(Bayesian, BI)构建系统发育树。在构建贝叶斯树时，共运算 1000000 代，对每 100 代进行 1 次抽样, 并通过 Modeltest 3.06(Posada & Crandall，1998)检验寻找最合适的 DNA 替代模型（GTR+I+G）及相关参数，通过自引导获得系统树分支的置信值。在构建系统树时，采用欧洲狍(*Capreolus capreolus*)序列(GenBank Accession No.: Z70318)作外群，以获取系统树的根。用 Arlequin 3.1 软件 (Excoffier & Smouse, 1999)分析种群分化系数(*Fst*)和基因流(*Nm*)。

2　结　果

2.1　DNA 序列及其差异

对 32 个狍样本 mtDNA 控制区序列进行测定，获得了 460bp 的片段，并检测到 50 个变异位点（包括 1 个空隙/缺失位点），并由此定义了 27 个单倍型（序列的 GenBank 登录号为：EU122388，FJ416665-FJ416690）。其中 DFH7、DFH8、DFH9 和 DFH11 共享一个单倍型；TQ8 和 TQ11 共享一个单倍型；XQ1 和 XQ5 共享一个单倍型（表 1）。

2.2　群体遗传多样性和系统发生关系

将所测得的 32 个样品 mtDNA D-loop 序列按各自所属区系归类，用 DnaSP 软件计算各项遗传变异参数。从表 2 中可以看出，大兴安岭种群的遗传多样性（π=2.803±0.225，*h*=0.985±0.040）高于小兴安岭（π=1.946±0.401，*h*=0.956±0.045）和完达山（π=1.031±0.190，*h*=0.933±0.122）的遗传多样性。从 Tajima’s *D* 和 Fu & Li’s *D* 值的估算结果来看，这 3 个狍种群与中性进化的歧异度比较并无明显的偏离(P>0.1)，没有明显的证据显示这 3 个狍种群间存在很强的平衡选择(表 2)。

分别对大兴安岭、小兴安岭和完达山 3 个山系狍种群间遗传关系进行比较，经分析得出：大兴安岭－小兴安岭种群间核苷酸歧异度(*Dxy*＝0.02537)高于大兴安岭－完达山种群间核苷酸歧异度(*Dxy*＝0.02336)和小兴安岭－完达山种群间核苷酸歧异度(*Dxy*＝0.01762)，并根据 Nei（1982）的方法计算的地理单元间遗传分化系数(Gauns *St*)和根据 Hudson et al (1992)方法计算的地理单元间的基因流（*Nm*）等值。3 个群体间的遗传分化与基因流见表 3。

由表 3 可知，小兴安岭与完达山群体间 *Fst* 值为 0.124 49，两个群体间的每代迁移个体数为 3.53（Φ*st*=0.197, P>0.05）；大兴安岭与完达山群体间 *Fst* 值为 0.200 00，两个群体间的每代迁移个体数为 2.00（Φ*st*=0.243, P>0.05）；大兴安岭与小兴安岭群体间 *Fst* 值为 0.031 82，两个群体间的每代迁移个体数为 15.33（Φ*st*=0.145, P>0.05）。由此可见大兴安岭与小兴安岭群体间的分化水平最低，这两个群体间的每代迁移个体数最多，群体间差异均数最低，说明这两个地理单元间存在着基因流，而大兴安岭与完达山群体间遗传分化水平最高，个体迁移数最

表 1 27 种狍线粒体 DNA 控制区单倍型序列变异和分布

Tab. 1 Sequence variation and location with 27 mtDNA control region haplotypes in roe deer

Haplotype	Variable sites					Location
	1111 2440114 1255124790	1111111111 4456678999 5907999018	2222222222 2444566778 3047306070	2222233333 8889911123 2564912479	3333334444 5566992256 0201164810	
HT01	TTTAATTTAG	CGCAAATAAA	CAGCGGAATG	TTAAGATTAT	GGTCCGGTTA	TQ
HT02	..C.......	.A........	....	.......C..	A....A....	DFH
HT03	....	....	..A.......	....A.....	A....A....	TQ
HT04	....	....	...A.A....	...T......	....	TQ
HT05	....	....	...A.A....	...T......	........C.	TQ
HT06	...–......	......C...	..AA.AGGC.	..G......C	A....A.C..	XQ
HT07	...–..C...	......C...	..AA.AGGC.	..G......C	A....A.C..	XQ
HT08	....	......C...	..AA.AGGC.	..G.A..C.C	A....A.CC.	DFH
HT09	...–......	......C...	..AA.A.GC.	..G......C	A....A.C..	XQ
HT10	....	......C...	..AA.A.GT.	..G.......	A....A.CC.	DFH
HT11	G.........	.....GC...	T.AAAAG...	..G....C.C	A...T..C..	TQ
HT12	G...TC....	.....GC...	T.AAAAG...	..G....C.C	A...T..C..	TQ
HT13	.C........	....	..AAAA....	C	A...TA.C..	DFH
HT14	...T......	T.........	..AAAA....	..G......C	A.C..A.CC.	DFH
HT15	....	T.........	..AAAA....	..G......C	A.C..A.CC.	DFH
HT16	.C........	T.........	..AAAA....	..G......C	A.C..A.CC.	DFH
HT17	.........A	T.........	..AAAA....	..G......C	A....AACC.	DFH
HT18	....	T.........	..AAAA....	..G......C	A....AACC.	DFH
HT19	....	T.......G.	T.AAAA....	..G......C	A...TA.CC.	TQ
HT20	......C...	....	..AAAA....	..G.......	A....A.CC.	XQ
HT21	....	....	..AAAA....	..G.......	A....A.CC.	XQ
HT22	.......A.A	T.........	..AAAA....	..GT.TA...	A....AACCT	TQ
HT23	.......A.A	T..T......	..AAAA....	..GT.TA...	A....AACCT	TQ
HT24	........G.	...TG..G.G	..AAAA....	..GT.TA.G.	A....A.CCT	TQ
HT25	........G.	...TG..G..	..AAAA....	..GT.TA.G.	A....A.CCT	TQ
HT26	....	.....G....	.GAAAA...A	GAGT.TA...	AA..TA.CCT	DFH
HT27	....	T.T..G..G.	..AAAA..C.	...T.TAC..	A..TT..CCT	DFH

少，群体间差异均数较高。

同时利用 MEGA2 软件中 Kimura 2-parameter 法，包括转换（transition）与颠换(transversion)，计算序列间的遗传距离矩阵。完达山地区狍种群内平均遗传距离为 1.05％，小兴安岭地区狍种群内平均遗传距离为 1.99％，大兴安岭地区狍种群内平均遗传距离为 2.88％。

基于 NJ 和 BI 系统发生树分析，来自不同山系的样品均未表现出按地理分布形成明显的簇（图 2 和 3），而缺乏比较明显的，则按地理单元划分为簇的地理分布格局（单倍型分布见表 1）。

3 讨 论

物种遗传多样性的高低是评判物种是否能长期生存的依据，而衡量一个种群 mtDNA 的遗传多样性有两个重要指标：单倍型之间的平均遗传距离

表 2　狍线粒体 DNA 多样性（种群内）

Tab. 2　MtDNA diversity of roe deer (Within populations)

参数 Parameters	种群 Population			合计 Total
	大兴安岭 Great Khinghan	小兴安岭 Lesser Khinghan	完达山 Wandashan Mountains	
序列数 Number of sequences	12	6	14	32
单倍型数 Number of haplotype	11	5	11	27
突变数 Total number of mutations	35	8	38	50
多态位点数 Number of polymorphic sites	35	8	38	50
单倍型多样性 Haplotype diversity(*h*)	0.985±0.040	0.956±0.045	0.933±0.122	0.978±0.012
核苷酸多样性 %Nucleotide diversity(π)	2.803±0.225	1.946±0.401	1.031±0.190	2.260±0.199
核苷酸差异多样性 Average number of nucleotide difference	12.894	8.912	4.733	10.353
(G+C)含量 (G+C)%	33.8	33.8	34.2	33.9
Tajima 检验 Tajima's *D*	0.50976*	-1.10307*	1.06909*	-0.61266*
Fu and Li 检验 Fu and Li's *D*	1.10145*	-0.65097*	1.59817**	0.11749*

*P>0.1, not significant; **0.1>P>0.05, statistical significant.(Tajima,1989;Fu & Li,1993)

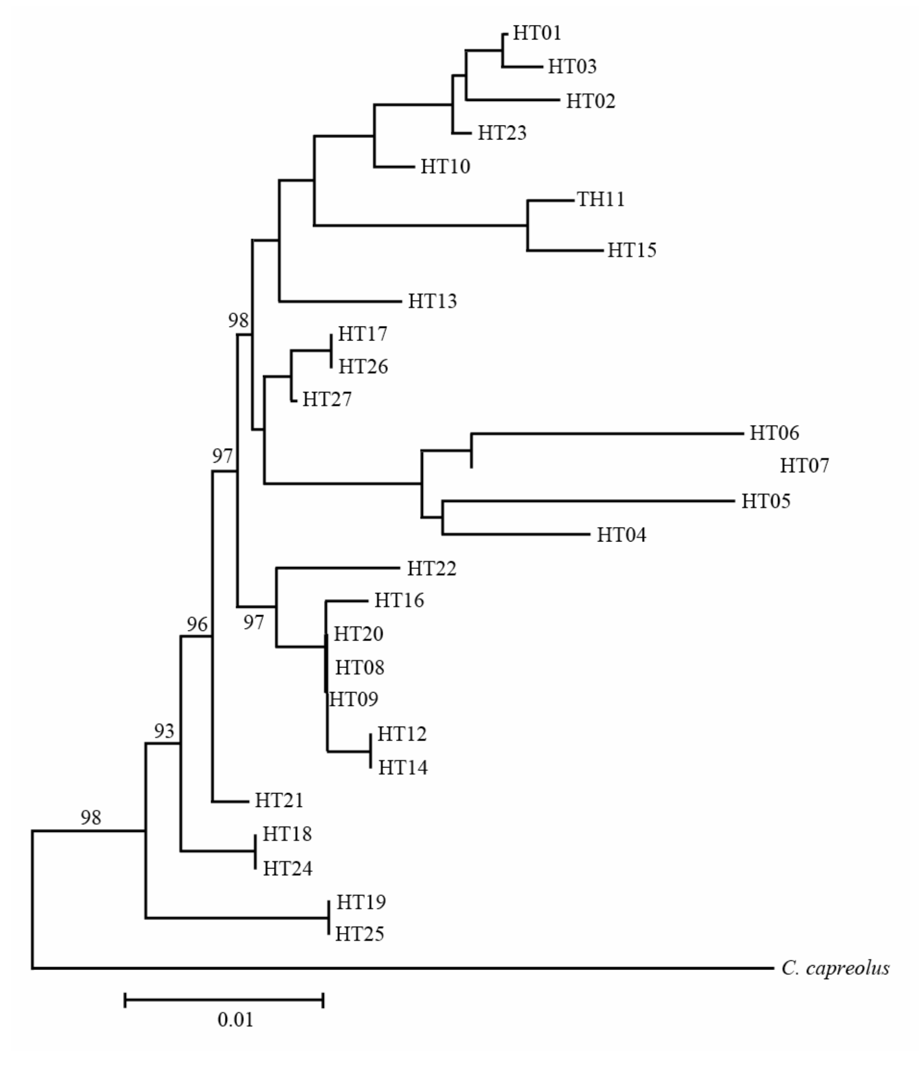


图 2　NJ 法构建的狍 mtDNA 控制区序列的系统发生树

Fig. 2　Phylogenetic relationship of the roe deer mtDNA control region haplotypes constructed by the neighbor-joining method

表 3 狍线粒体 DNA 多样性（种群间）

Tab. 3 MtDNA diversity of roe deer (Between populations)

参数 Parameters	XQ—DFH	TQ—XQ	TQ—DFH
种群间核苷酸差异平均数 Average number of nucleotide differences between populations	8.071	11.619	10.722
种群间核苷酸歧异度 Average number of nuc. subs. per site between population (*Dxy*)	0.01762	0.02537	0.02336
共有的变异位点 Shared Mutations	7	24	5
固定差异位点 Number of fixed differences	0	0	0
种群间的分化水平/每群体间的迁移个体数(基因流) *Fst*/*Nm*	0.12449/3.53	0.03182/15.33	0.20000/2.00
地理单元间遗传分化系数/每群体间的迁移个体数 Gamma *ST*/*Nm*	0.10106/4.45	0.06362/7.36	0.13144/3.30

TQ：大兴安岭山系种群；XQ：小兴安岭山系种群；DFH：完达山山系种群。

TQ:Great Khinghan population; XQ :Lesser Khinghan population; DFH :Wandashan Mountains population.

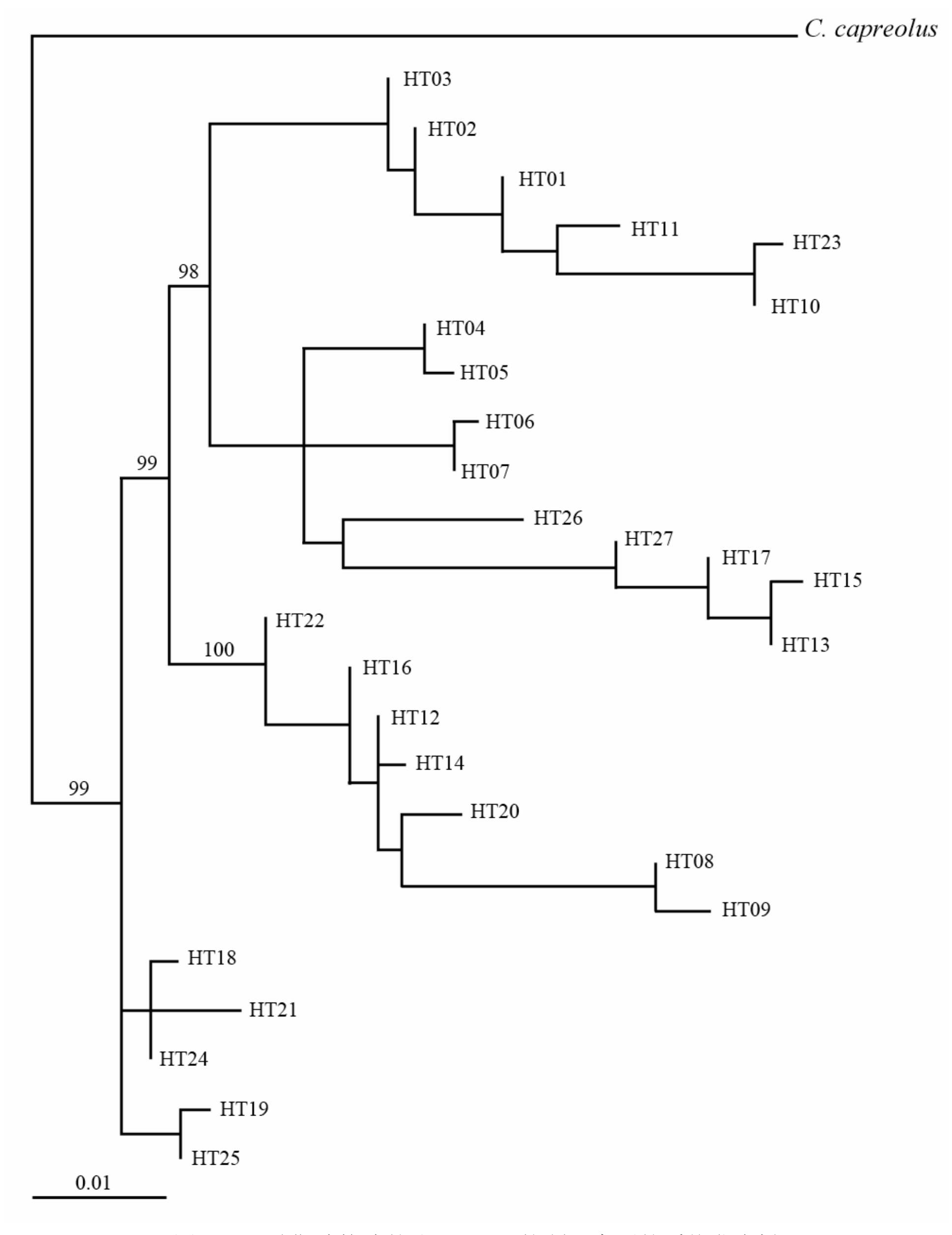


图 3 贝叶斯法构建的狍 mtDNA 控制区序列的系统发生树

Fig. 3 Phylogenetic relationship of the roe deer mtDNA control region haplotypes constructed by the Bayesian method

和核苷酸多态性。由于核苷酸多态性的值计算了各 种 mtDNA 单倍型在群体中所占的比例，因此在反

映一个群体的 mtDNA 的多态程度时核苷酸多态性比单纯的遗传距离平均值要精确，核苷酸多态性的值越高，则说明群体的遗传多样性越高。本研究中 3 个地理单元狍核苷酸多态性在 1.03%—2.80%之间，平均核苷酸多态性为 2.26%，其中大兴安岭狍种群核苷酸多态性较高为 2.80%，这与其他野生动物相比是较高的，如非洲花毛羚(*Hippotragus equinus*)，其线粒体核苷酸多态性为 1.9% (Alpers et al, 2004)，英国马鹿(*Cervus elaphus*)的线粒体核苷酸多态性为 0.56%（Hmwe et al, 2006)，中国大陆梅花鹿(*Cervus nippon*)种群的线粒体核苷酸多态性为 2.11%（Liu et al,2003)，从而说明东北地区狍群体线粒体 DNA 控制区存在着丰富的多态性，原因可能是我国东北地区历史上植被一直保存比较完整，虽然近年来人类活动的干扰使原本连成一片的原始森林呈现板块状分布，但是仍然存在适合于狍生存的环境，不同山系的种群间个体仍能相互迁移，同时也说明此地区狍没有经历瓶颈效应或建群者效应。

关于不同山系间的群体遗传结构情况，我们测得了 3 个山系种群间的核苷酸歧异度：大兴安岭与小兴安岭地理单元种群间的核苷酸歧异度为 2.54%；大兴安岭与完达山地理单元种群间的核苷酸歧异度为 2.34%；小兴安岭与完达山地理单元种群间的核苷酸歧异度为 1.76%。可以看出各地理单元间并无显著的遗传分化出现（$0.145<\Phi st<0.243$, $P>0.05$；$2.00<Nm<15.33$）。此外，从构建的系统树中，也可以看出狍种群内的遗传多样性水平较高，3 个地理单元间没有分别聚为 3 个支系，而是相互交错相聚，说明群体间没有出现显著的分化，表明 3 个地理群体间的遗传基础比较一致，存在基因流。这一结果与我们单倍型及其频率、*Fst* 值、遗传距离、基因流分析所提示的结果一致。

虽然，狍不是我国重点保护动物，但却是重要的经济兽类，也是森林肉食动物的重要食物，具有重要的生态学和经济意义。近年来，由于人类活动（林地开垦、道路修建、居民点扩增、森林砍伐等）的干扰加剧，已使其生境遭到不同程度的破坏。因此，在加强狍栖息地的保护和修复工作的同时，对基因流强度较高的斑块应重点加以保护，逐渐恢复片断化狍种群的大小，以便将能有效地保护狍种群的遗传多样性。在基因流强度较低的斑块间人为建立廊道，供种群间个体迁移所用；有计划地恢复一些对基因流有重大影响的栖息地。对于无法恢复或者建立廊道的片断化栖息地，可以根据等位基因的差异程度，采用人工引种，人为的增加种群间的基因交流，增大物种的遗传多样性（Wang,1998)，也可以在残留种群间保留一些作为基因流踏脚石的个体或小种群，在景观水平上形成斑块种群，将能更有效地保护狍种群。

参考文献：

Adams JR, Kelly BT, Waits LP. 2003. Using faecal DNA sampling and GIS to monitor hybridization between red wolves (*Canis rufus*) and coyotes (*Canis latrans*)[J]. *Mol Ecol*, **12**: 2175-2186.

Alpers DL, Van Vuuren BJ, Arctander P, Robinson TJ. 2004. Population genetics of the roan antelope (*Hippotragus equinus*) with suggestions for conservation [J]. *Mol Ecol*，**13**(7): 1771-1784.

Chen HP, Xiao QZ. 1991. Comparison of winter trophic strategies between red deer and roe deer in Dailing region [J]. *Acta Ecol Sin*, **11**(4): 349-354.[陈化鹏, 萧前柱. 1991. 带岭林区马鹿和狍冬季营养对策的比较. 生态学报, **11**(4): 349-354.]

Excoffier L, Smouse PE. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA restriction data [J]. *Genetics*, **131**: 479-491.

Fu YX,Li WH.1993.Statistical tests of neutrality of mutations[J]. *Genetics*, **133**: 693-709.

Hmwe S, Zachos E, Sale J. 2006. Genetic variability and differentiation in red deer (*Cervus elaphus*) from Scotland and England [J]. *J Zool*, **270**: 479-487.

Hudson RR, Slantkin M, Maddison WP. 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data[J]. *Genetics*, **132**: 583-589.

Kumar S, Tamura K, Jakobsen IB, Nei M. 2001. MEGA2: Molecular evolutionary genetics analysis software[J]. *Bioinformatics*, **17**(12): 1244-1245.

Liu H, Yang G, Wei FW, Li M, Hu JC. 2003. Sequence variability of the mitochondrial DNA control region and population genetic structure of sika deers (*Cervus nippon*) in China[J]. *Acta Zool Sin*, **49**(1): 53-60.[刘海，杨　光，魏辅文，李　明，胡锦矗. 2003. 中国大陆梅花鹿 mtDNA 控制区序列变异及种群遗传结构分析. 动物学报, **49**(1): 53-60.]

Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models [J]. *Bioinformatics*, **19**: 1572-1547.

Randi E, Pierpaoliand A. 1997. Mitochondrial DNA polymorphism in populations of Siberian and European roe deer (*Capreolus pygargus* and *C. capreolus*)[J]. *Herdity*, **80**: 429-437.

Rozas J, Rozas R. 2003. Dnasp, DNA polymorphism analysis by the coalescent and other methods[J]. *Bioinformatics*, **19**: 2496-2497.

Sheng HL. 1992. Chinese Deer[M]. Shanghai: East China Normal University Press, 305.[盛和林. 1992. 中国鹿类动物. 上海: 华东师范大学出版社, 305.]

Swofford DL. 2002. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony,Version 4 [M]. Sunderland MA: Sinauer Associates.

Tajima F.1989.Statistical method for testing the neutralmutation hypothesis by DNA polymorphism[J]. *Genetics*, **123**: 685-695.

Teng LW, Liu ZS, Zhang ED, Ma JZ. 2006. Winter bedding site selection by the roe deer(*Capreolus capreolus*) in Sanjiang Nature Reserve, Heilongjiang Province, China[J]. *Zool Res*, **27**(4): 403-410.[滕丽微, 刘振生, 张恩迪, 马建章. 2006. 黑龙江省三江自然保护区狍对冬季卧息地的选择. 动物学研究, **27**(4): 403-410.]

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. 1997. The Clustal X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. *Nucleic Acid Res*, **24**: 4876-4882.

Wang LJ, Hong ML, Xiao XH, Ma JZ. 2005. Morphology and food particles distribution of the digestive tract of roe deer during winter [J]. *Acta Theriol Sin*, **25**(4): 361-366.[王力军, 洪美玲, 肖向红, 马建章. 2005. 狍冬季消化道形态特征及食物颗粒分布. 兽类学报, **25**(4): 361-366.]

Wang W. 1998. Molecular phylogenetics and biodiversity conservation[J]. *Chn Biodiver*, **6**(2): 138-142. [王 文. 1998. 分子系统学在生物保护中的意义. 生物多样性, **6**(2): 138-142.]

Xiao CT, Zhang MH, Fu Y, Koh HS. 2007. Mitochondrial DNA distinction of Northeastern China roe deer, Siberian roe deer, and European roe deer, to clarify the taxonomic status of Northeastern China[J]. *Biochem Genet*, **45**(1/2): 93-102.

Yang BT, Ma JZ. 2004. Analyzing the genetic diversity of capreolus in the Northeast by mtDNA D-loopsequence[J]. *J Jilin Agricul Univ*, **26**(6): 672-676.[杨宝田, 马建章. 2004. 东北狍 mtDNA D-loop 序列多态性分析. 吉林农业大学学报, **26**(6): 672-676.]

Zhang MH, Xiao CT, Koh HS. 2005. Taxonomic status of roe deer in Northeastern China based on mitochondrial DNA sequences[J]. *Acta Theriol Sin*, **25**: 14-19.[张明海, 肖朝庭, Koh HS. 2005. 从分子水平探讨中国东北狍的分类地位. 兽类学报, **25**(1): 14-19.]

〜〜

香港嘉道理农场暨植物园中国项目简介